

Crepis capillaris の開花について

矢 沢 静 江

(Received January 26, 1987)

クレピス・カピラリスを組織培養の実験材料として圃場で栽培してきたが、この植物は形態的にも染色体的にも比較的安定した種である。

クレピスの組織培養については、REINERT & KÜSTER (1966), YONEDA (1969), その他の多くの報告があるが、筆者もクレピスのカルスの細胞学的・形態学的観察及び分化についてこれまでに報告している (1967, 1972, 1985)。本論文においては、長期間圃場で栽培してきたクレピスの開花、培養瓶中で種子から生育した植物の開花、葉のカルスからの分化によって育成した植物の開花を中心として比較観察した結果を述べる。

実験圃場に於けるクレピスの開花と結実等については過去数年間の記録資料をもとにした。

種子からの培養植物については、培養瓶中で花蕾の出現をみたものを主として用いた。

材料および方法

材料として用いたクレピス (*Crepis capillaris* L.) は外来種であり、1932 年頃木原均氏がベルリンダーレム植物園から持ち帰られた種子を篠遠喜人氏に渡されて、当時、東京大学理学部附属植物園に栽培されていたものでその後、小野記彦氏が実験材料として保存され、東京都立大学理学部の圃場で長年栽培され、1962 年より東京女子大学の圃場で現在まで栽培されてきた自家受精の二年生植物である (Figs. 1-6)。

日本には同属の種は僅かに 2 種のみであり、それはフタマタタンボポ (*Crepis hokkaidoensis* Babcock) とエゾタカネニガナ (*Crepis gymnopus* Koidzumii) であり、前者は北海道以北 (大雪山等) にのみ存在し、後者は北海道蛇紋岩地域にのみ生育するので、関東地方では同属の種は自然には存在しない。

クレピス・カピラリスは染色体数が少なく、体細胞染色体は 6 本 ($2n=6$) であり、核型も安定しているので各種の研究の実験材料として用いられているが、筆者も植物組織培養の材料として 1960 年頃から栽培してきた。

その間、気候条件・栄養条件・圃場の条件などによって外観の変動も多少はあるが (Figs. 1, 2), 形態的に比較的安定していて染色体数や減数分裂なども正常であった。

今回は、圃場におけるクレピスの開花時期その他について観察をつづける一方で、培養瓶中で、種まき培地としての O 培地 (ホルモン類を含まない寒天培地) に消毒した種子を播いて成長した植物 (Figs. 7-14) と、クレピスの葉のカルスからの分化によって育成された植物 (Figs. 15-30) とを、それぞれ生育過程や開花などについていくつかの点で比較した。

なお、図や写真の説明については実験圃場の植物は N で示し、種子からの培養植物に関しては S で、カルスに由来する培養植物は C で示した。

カルスからの分化の比較的初期段階の形態学的観察については、前述の論文に述べてあるので、今回は主としてそれ以後の段階から開花までを中心に述べた。

培地は Murashige & Skoog の基本培地を用い、蔗糖は 3%，寒天は 0.8% としてこれを O 培地（種まき培地）とした。K 培地はその他に、インドール酪酸 (IBA) 10 ppm とカイネチン (K) 5 ppm となるよう加えた培地である。O 培地にインドール酪酸 10 ppm, 2, 4-ジクロロフェノキシ酢酸 (2, 4-D) 5 ppm になるように加えた培地が D 培地である。

今回は外部形態の観察を主とし、肉眼的観察が大部分を占めているが、一部の小花等については (Figs. 43, 45, 47, 49) 反射光による顕微鏡観察をも行ない、花粉の稔性については、アセトカーミン染色による顕微鏡観察を行なった (Figs. 44, 46, 48)。

種子の発芽については、シャーレー中の濾紙上に播き、25°C の恒温器中において種子を発芽させその発芽の%を発芽率とした。

培養瓶中の発芽率については、K 培地や D 培地ではほとんど発芽しないので、O 培地上に播いた種子についてその発芽率を調べた。

写真の大部分はカラー写真からモノクロームにしたものであり、明確に現わせない部分もあった。写真や図は通し番号を右下につけて整理した。

Fig. 42 に、全体的な開花に至るサイクルを N と S と C にわけて模式図的に示してみた。図中で右側または下側の数字は、それにあたる写真の通し番号を示し、左側の O, D, K などの記号は培地の種類を区別している。

実験・観察および考察

実験圃場の植物 N の開花

クレピスの開花時期は、その年によって多少のずれはあるが、同じ圃場での長期間の栽培によってほぼ明らかになった。

数年間にわたりクレピスの最初に開花した月日と、その花が結実して種子の冠毛が伸びて球状に開いた時の月日とを記録した。その結果を Table 1 に示した。開花・結実の一方を記録できなかった年は、この表から除いた。

Table 1.

Year	Date of flowering	Date of fructification	Days between flowering and fructification
1974	May 18	June 4	17
1977	May 9	May 30	21
1978	May 10	June 6	27
1979	May 8	June 7	30
1981	May 12	June 5	24
1982	May 23	June 9	17

この表に示すように、およそ5月中旬（5月8日～5月23日までの間）に咲きはじめ、約23日目（開花から17日～30日目）には完熟した種子となって飛散して地上に落ち、その年に発芽し、根出葉を出してロゼットで冬を越す。春3月下旬～4月には、中心部から茎立ちして花芽を形成し、5月中旬頃には開花し始める。その後、つぎつぎに頭状花を

着けて3ヵ月以上咲きつづける。その過程は Fig. 42 の上段に図示した (Fig. 42 の N)。

根出葉の葉片の数が少なく植物体が小型の場合 (Figs. 3, 6) には, Fig. 1 のように枝分れも少なく頭状花も少ない植物体となることが多く, 根出葉の数の多いロゼット (Fig. 4) の場合には, Fig. 2 のように葉も花も多い植物体になることが多い。

花は黄色で頭状花の大きさや小花の数にも変動はあるが, 総苞片は 13 でやや安定している。小花の数に関しては, 平常 46~63 位の幅がある。花粉の稔性は 98% であった。発芽率は Table 2 に示した。

Table 2.

Date of test: Aug. 18, 1980.

Year of fructification	% of germination
1977	26
1978	30
1979	86
1980	43

種子からの培養植物 S の開花

クレピス・カピラリスの種子の発芽率は, 好条件であれば 80% をこえるが, 3 年以上の古い種子でも 26% の発芽であった (Table 2)。

1980 年の種子の発芽率が悪いのは, その年の種子が気候条件のためか少なく, 外見的にもやや不良だったためと考えられる。

培養瓶中での種子からの発芽に関しては, D 培地・K 培地とも不発芽で, O 培地のみ発芽する。O 培地での発芽率は約 80% であった。

稀に K 培地で発芽しはじめてもすぐカルス化してしまった例はある (Fig. 42 の S の下段)。

一般には種子から発芽した幼植物は, 子葉のでたと根出葉を少しだけ出して, 長期間そのままである (Fig. 42 の S の右下段) か, 茎立ちする (Fig. 42 の S の中段) かしてその後に花蕾を分化してくる。時には根出葉でコルベンや培養瓶いっぱいになりながら茎立ちしてこないものもある (Fig. 42 の S の右)。

茎立ちし花蕾までできても, 培養瓶中に入れて置く限り完全な開花には至らず, 蕾の先が割れるだけで開花せずに枯死したり, 蕾のままで枯死したりする。早目に培養瓶から出して, 培養箱中のパーミキュライトに移植するか, 花蕾が出現してからなるべく早い時期に瓶から外へ出して植えかえれば, 開花させることができる。

もっとも短期間に開花した場合で, 播種から開花まで 3.5 ヶ月であった。いくつかの例を Fig. 42 の S に示した。

Figs. 7, 10 は 9 ヶ月で開花した場合であるが, コルベンから出してパーミキュライトを入れた深型シャーレーに移植することにより開花した。

Figs. 8, 11 は, 種子から培養して 3.5 ヶ月で開花した植物で, 全体に貧弱で茎が細く, 花も小型で貧弱な花しか咲かなかった。

その後に分岐して多くの花を着けたが, 総苞片は 9 で少なく, 小花数も 17~24 であっ

た。それにもかかわらず花粉の稔性については 93% を示した。

培養瓶からの移植をもっと早期に行ない、栄養条件にもう少し配慮を加えれば、植物体の状態や小花の数などはさらに改善できるものと考えられる。

カルスからの植物 C の開花

これまで、クレピス・カピラリスの根・茎・葉などからカルスをつくり、それらを材料として細胞学的・形態学的な研究をしてきた (1967, 1972, 1985) が、その間にそれらのカルスから器官形成が行なわれ、殊に葉からのカルスは分化しやすいことがわかった。

カイネチン濃度が 4 ppm の培地で、7 日目にはカルスが出来はじめ、19 日目で葉状体が、90 日目で蕾の形成をみたのである (1972) が、草丈は僅か 3 cm 程でついには開花せず枯死してしまった。

その後も、カルスから分化した植物体が茎立ちして花蕾をつけることはあったが、開花はしなかった。

葉からのカルスと、それからの分化・開花までの写真を Figs. 15-41 に示した。また Fig. 42 の C に、葉のカルスからの植物体の分化と開花について、いくつかの代表的な例を示した。

葉からできたカルスの外観を Figs. 31, 36, 37 に示した。培地は左端に記号で示した。

こうしてできたカルスを O, K, D それぞれの培地で培養した結果は、Fig. 32 に示した。他に Figs. 33, 34 は K 培地であり、Fig. 35 は O 培地でカルスからの発根が見られる。

Figs. 38-41 にカルス細胞 (D 培地) のいくつかの形態を示した。

カルスからの初期の分化の内部形態等に関しては、1985 年の「*Crepis capillaris* の緑色のカルスの形態学的観察」で述べたので、ここでは省く。

カルスをつくるためには D 培地がよく、分化させるためには D 培地から K 培地に移植するのが一般的には効果がある。また茎立ちさせるためには、O 培地へ移植させて発根をうながすことと、光条件を強めることが効果的であった。

温度は約 25°C の恒温器中で 14 時間の光条件とした。

Fig. 25 は記号で記したように、左から O, K, D 培地であり、カルスを置床してから 38 日目で、O 培地では茎立ちし花蕾をもっているが、K 培地では緑のカルスが分化したのみで、D 培地では薄黄色のゆるいカルスである。Fig. 32 もほぼ同様の結果である。

Fig. 28 は、すべて K 培地から O 培地へ移植したもので、カルス移植後 38 日目のものである。このままではいずれも開花せず、培養瓶から外へ出し、パーミキュライトに移植してはじめて開花した。右側の小形植物は開花せずに 80 日後に枯死した (Fig. 28 の右と Fig. 26)。

K 培地から O 培地へ移植して発根させた段階 (Fig. 17) で、植物体を取り出し、多発生した苗をとり出して分割し (Figs. 18, 19)、土を入れたプランターに移植して (Figs. 20, 21) 育てた。

プランターは大きな木製の恒温箱に入れ、上から蛍光灯で照らした。プランタで根出葉を多く出した植物の茎立ちは、中央部からでなく、先ず横の方に茎立ちをはじめ (Fig. 23),

その後中央部に別の茎立ちをはじめた (Fig. 24)。それらは急速に伸びて花蕾を沢山着けて開花した (Figs. 15, 16)。それ以外にも側方から2本程小さな花茎を出した。

この場合 (Figs. 15-24) は、葉片をD培地に置床してから約7ヵ月で開花した例である。この植物体は高さ約40 cmで、恒温箱中で2ヵ月以上にわたりつぎつぎと花を着け咲きつづけた。

カルスをK培地に置床し、途中からO培地に移植して、花蕾がでてからバーミキュライトを入れた深型シャーレーに移植して開花させた場合には2.5ヵ月で開花したものもある (Fig. 42-C の下段)。

頭状花の大きさは比較的大きい (Fig. 16) が、総苞片の数は13で、小花数は圃場のものに比べると少なく33~38であり、花弁はねじ曲ったような形をしたものが屢々見られた (Fig. 47)。花粉は沢山見られたが、カーミン染色では69%の花粉の稔性であり (Table 3) 花粉の形態も小型で不染のものが屢々見られた (Fig. 48)。

花はそのままつぎつぎと2ヵ月余り咲きつづけたが、種子はできなかった。

小花と花粉

カルスからの植物体Cは、圃場のクレピスと比べると総苞片の数は13で同じであるが、小花数はやや少ない。しかし小花の花弁がねじ曲っていたり (Fig. 47)、花柱の先にNやSには見られない突起状のものが見られ、また、花粉は充分でているのに花粉の稔性が69%であるなど、明らかなちがいが見られた。

S (種子からの培養植物) の場合は、全体に小さく貧弱な植物体に育ってしまい、総苞片の数9、小花数16~19といずれも最少を示したにもかかわらず、花粉の稔性は93%を示していることがわかった。まだ例が少なく、もっとよい条件での種子からの培養植物を育てた上で改めて比較しなくてはならないが、圃場の植物Nを小さな鉢植えで圃場で育てると、小型の植物になり、その場合も総苞片の数は9になり、小花数も極度に少なくなる。

一方、種子からの培養植物Sも、その小型植物に似ており、花粉稔性もあまり変化なく低くならないので、SとNは本質的な変化がないと考えられる (Table 3 参照)。

Table 3.

	Number of involucreal scales	Number of florets	% of pollen fertility
N	13	46~63	98%
S	9	16~24	93%
C	13	33~38	69%

葉のカルスから分化した植物は、これまでの論文 (1972, 1985) に述べたように、葉からのカルスが細胞学的にも形態学的にも多様性を示し、殊に39日目に染色体の変化をおこしている例もある。

これらを考えあわせてみると、葉のカルスからの植物体については、今後分化の過程とその植物体に関するさらに詳細な観察と研究に待たねばならない。

なお、圃場の植物Nでは開花期も限られ、開花まで長期間を要するが、Fig. 42 に示

されたように、S、C の場合開花までの日数も短縮され、開花時期も任意に設定できるので、培養条件を更に改善できれば、これまで開花期が異なって交雑の困難であった植物（一例を挙げればヤクシソウやアキノノゲンなど）との交雑も可能となると考えられる。

摘 要

クレピス (*Crepis capillaris* L.) を実験圃場で長期間栽培しながら、その開花に至るサイクルを観察した (N)。

このクレピスの種子を用いて培養瓶中での無菌培養を行なった。長期間ロゼット状のままのこともあるが、もっとも短い場合では 3.5 ヶ月で開花させることができた (S)。

クレピスの葉からのカルスを培養し、さらに分化させて、いくつかの方法でカルスからの植物体を開花させることができた (C)。

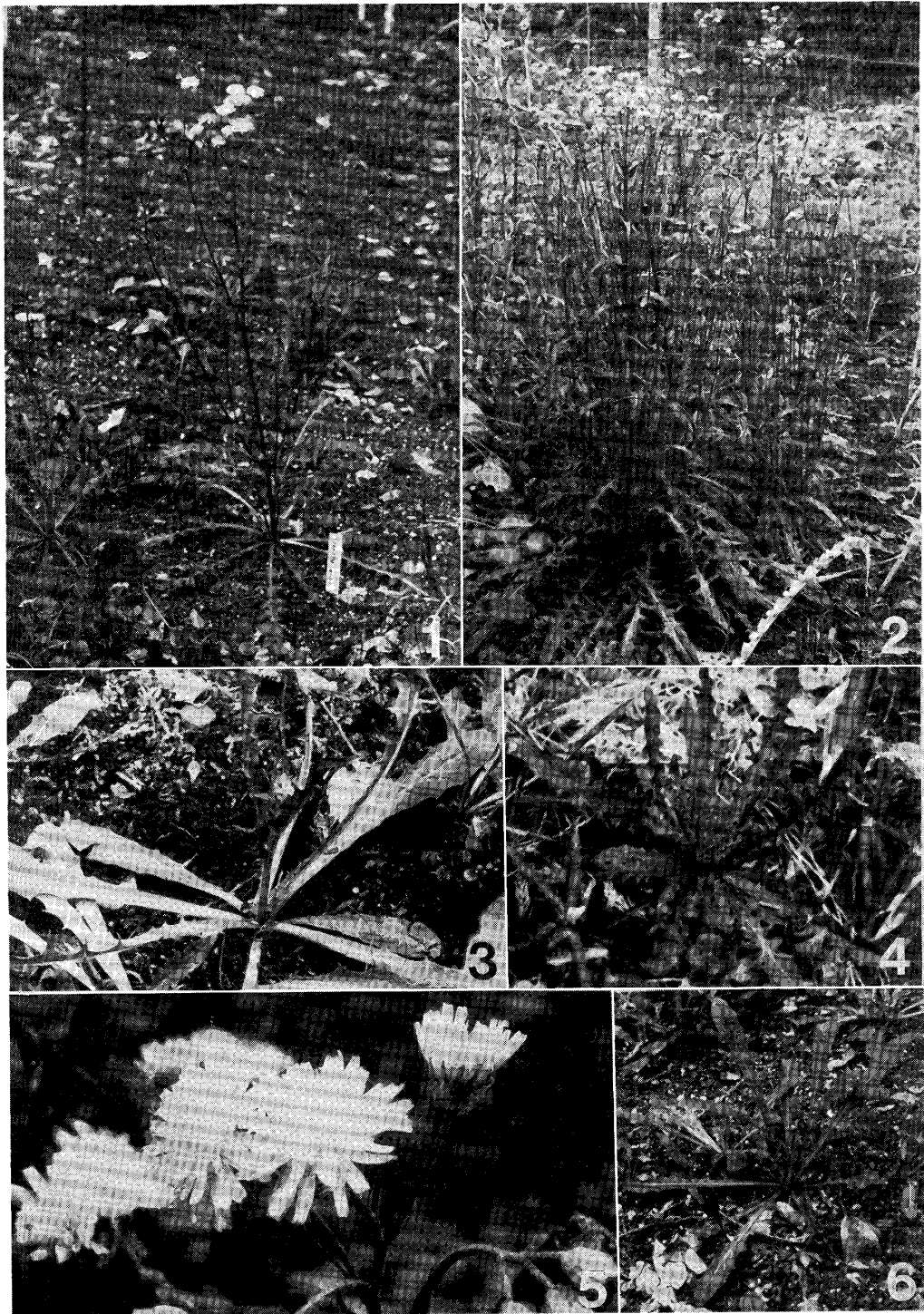
もっとも短い場合では、カルスを置床してから 2.5 ヶ月で開花させることができた (C)。

圃場の植物 (N)、種子からの培養植物 (S)、葉のカルスから分化した植物 (C) の三者の開花に至るまでの過程やサイクルを比較し、また小花などについても比較した。

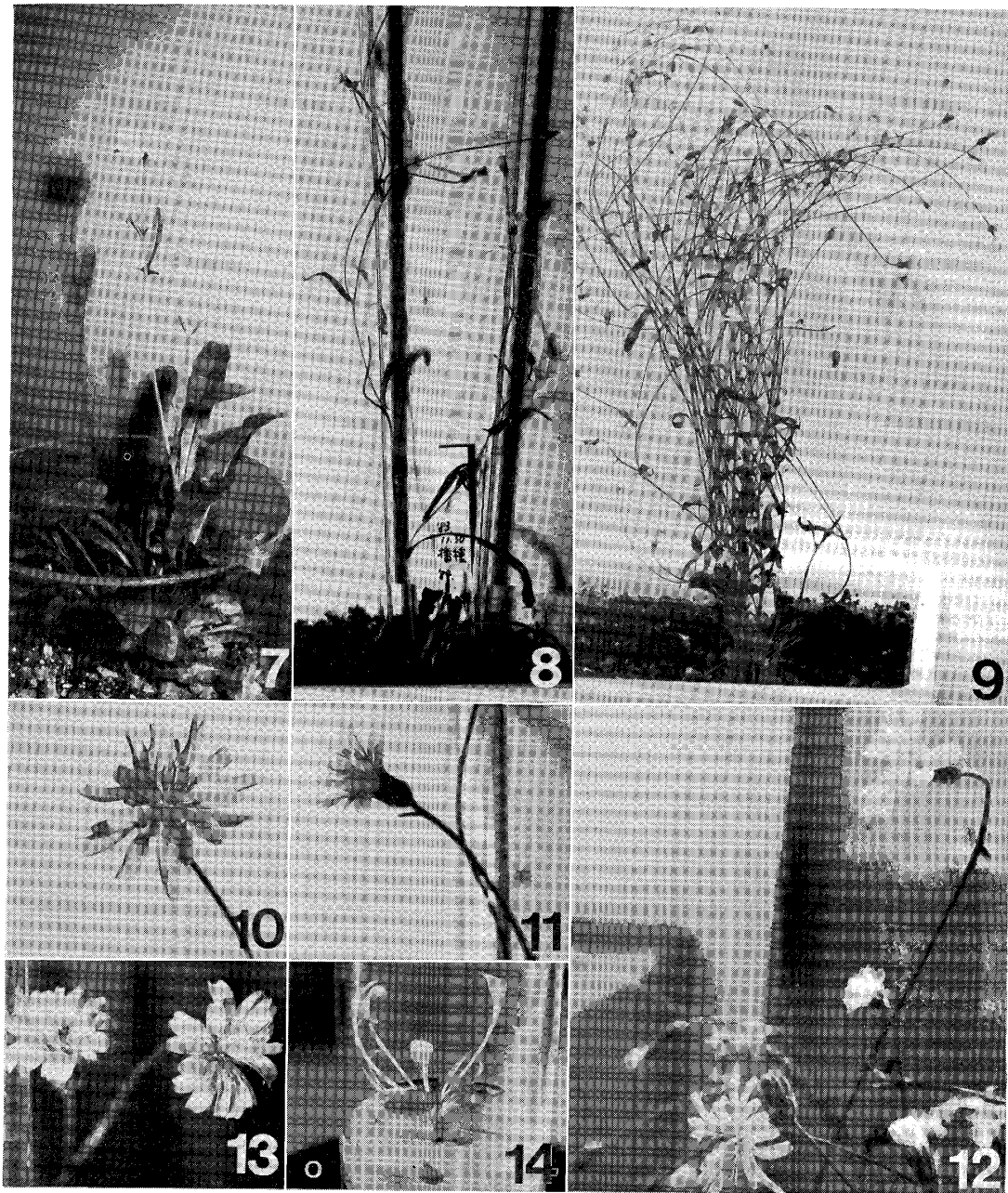
種子からの培養植物 (S) は、全般に小型で小花数や総苞片の数が少ないが、花粉の稔性は高くむしろ正常に近く、カルスからの植物 (C) は、小花の数や大きさ等は圃場のもの (N) に近いにも拘らず、花卉の形のねじれや花粉の稔性の低さなどに異常を示した。

文 献

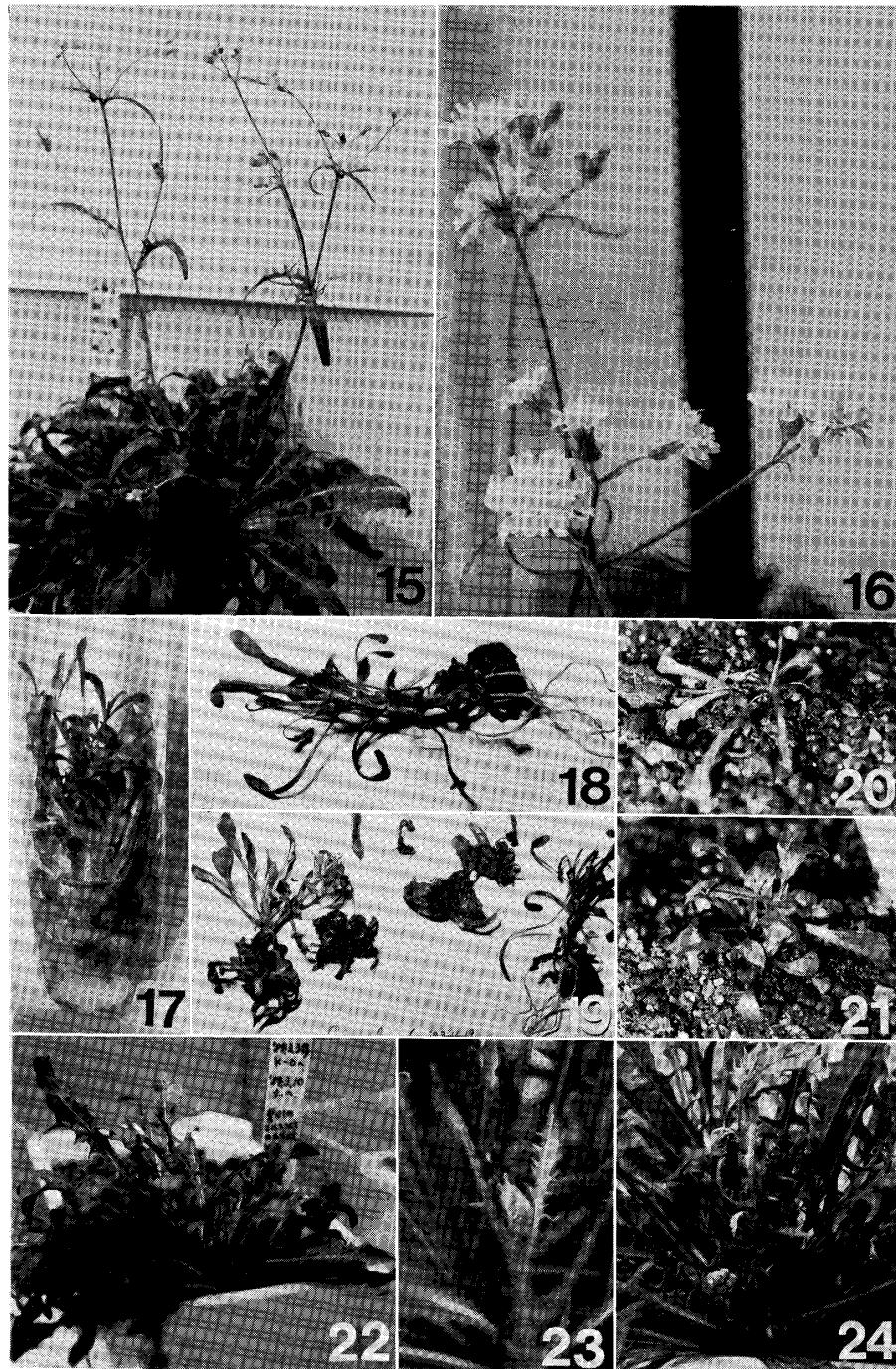
- 1) 原 襄 (1972) 植物の形態. 裳華房.
- 2) 原田 宏・駒嶺 穆編 (1979) 植物細胞組織培養. 理工学社.
- 3) 石原愛也 (1966) エンジンの貯蔵根起源のカルスの生長およびカルスにおける器官形成に関する組織学的観察. 日本作物学会記事, **34**: 431.
- 4) 勝見允行・増田芳雄編 (1983) 実験生物学講座 16. 丸善.
- 5) 北村四郎 (1975) 世界の植物. 朝日百科, 1:5.
- 6) MURASHIGE, T. and NAKANO, R. (1965) Morphogenetic Behavior of *Tobacco* Tissue Cultures and Implication of Plant Senescence. *Amer. Jour. Bot.*, **52**: 819.
- 7) REINERT, J. und KÜSTER, H. J. (1966) Diploide, Chlorophyllhaltige Gewebekulturen aus Blättern von *Crepis capillaris* (L.) Wallr. *Pflanzenphysiol.*, **54**: 213.
- 8) 矢沢静江 (1967) *Crepis capillaris* のカルスの細胞・形態学的観察, 植物学雑誌, **80**: 413.
- 9) 矢沢静江 (1972) *Crepis capillaris* のカルス形成と器官形成. 東京女子大学論集, **22** (3):
- 10) 矢沢静江 (1985) *Crepis capillaris* の緑色のカルスの形態学的観察, 東京女子大学論集, **35** (3): 773.
- 11) YONEDA, Y. (1969) Organ Formation in Cultured Leaf Blades of *Crepis capillaris*. *Bot. Mag. Tokyo*, **82**: 971.
- 12) YONEDA, Y. (1969) Histological Change in isolated *Crepis* Leaved Cultured *in vitro*. The Reports of the Department for Liberal Arts, Shizuoka University (Sciences), No. 5.



Figs. 1-6. *Crepis capillaris* of experimental field (N). Figs. 1, 2. *Crepis capillaris* coming to bloom in June. 75 cm high. Those in Fig. 2 had more radical leaves and capitate flowers than those in Fig. 1. Figs. 3, 4, 6. Rosette, they pass the winter in the form of a rosette and form stems in April. The plant in Fig. 4 had more radical leaves than those in Fig. 6 and later very often came to resemble those in Fig. 2. In Fig. 3, from the center of the rosette a stem comes out. Radical leaves are scarce. Fig. 5. Flowers of *Crepis capillaris*. ($\times 1$). The number of florets are about 46-63. The number of involucral scales is 13.



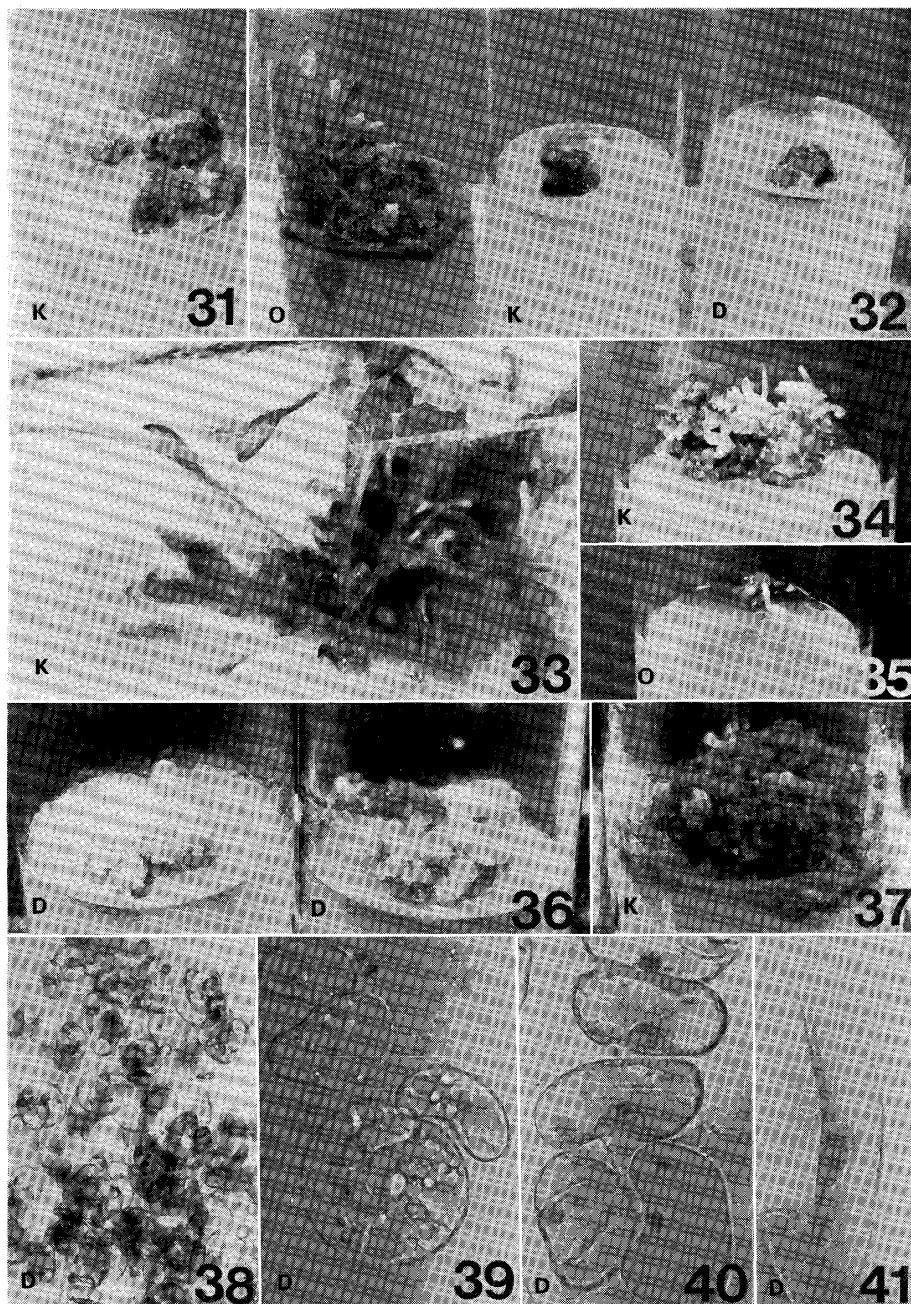
Figs. 7-14. The culture plant from the seed (S). Each represents a plant cultivated in a sterile pot from sterile seed. Figs. 7, 10. Kept on O-medium until it got flower buds and then transplanted. It bloomed nine months after seeding. (17 cm high). Figs. 8, 9, 11-13. Bloomed in three and a half months after seeding. (30 cm high). Transplanted into the soil of a plant-box whose warmth was kept constant, the plant had long stems though looked poor but had many flowers that lasted about four months. Fig. 14. A month after it budded in the O-medium. ($\times 1$).



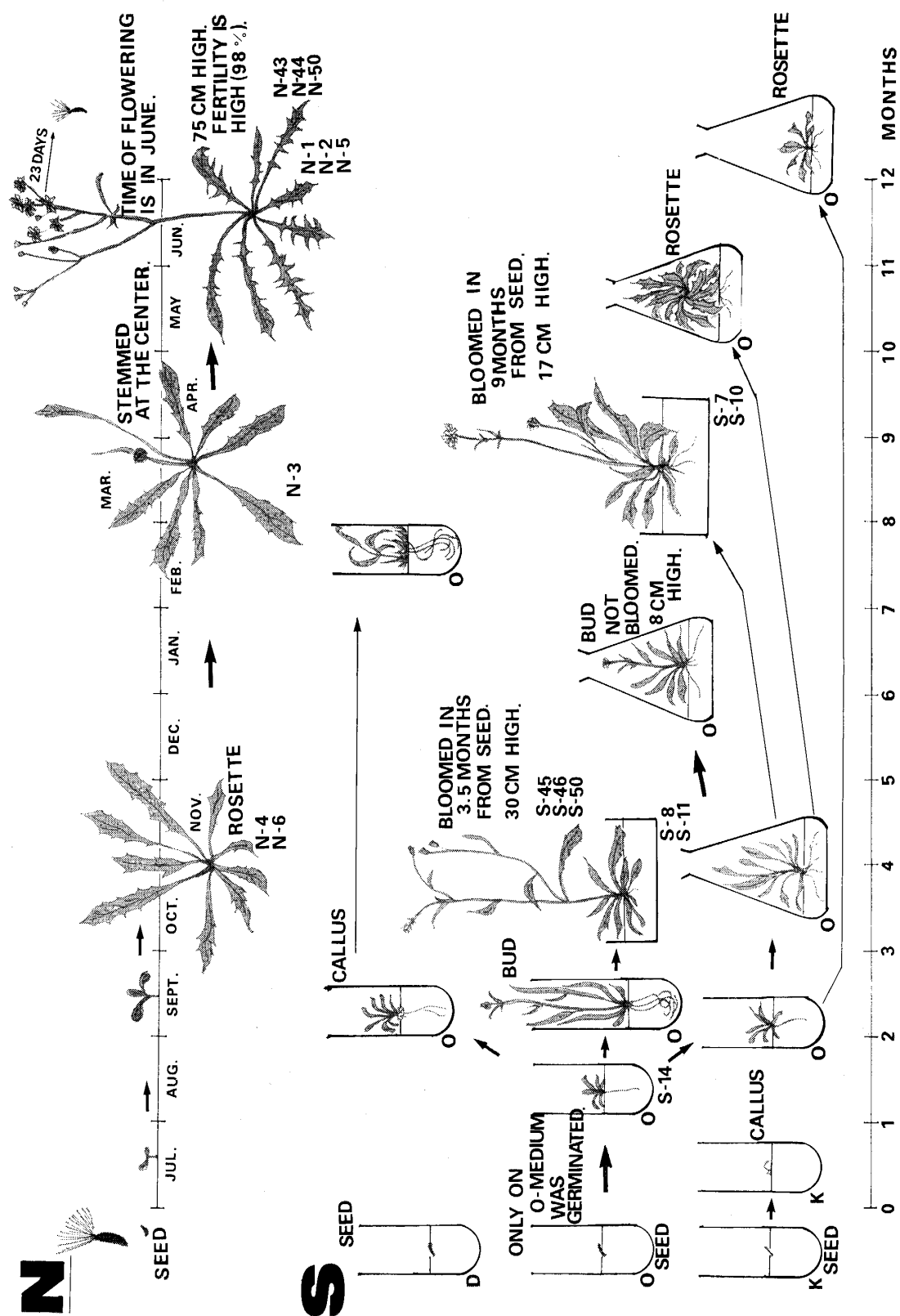
Figs. 15-24. A plant body differentiated from leaf callus (C). Figs. 15, 16. A plant body, differentiated from leaf callus, bloomed for the first time after seven months. Radical leaves had many leaf fragments and were 40 cm high. Pollen fertility was very low compared with that of N, S. (64%). Fig. 17. Plants that grew in great number in the K-medium culture pot until they filled the pot, then were transplanted into the O-medium to get rooted. ($\times 1/2$). Figs. 18, 19. Plants from the culture pots and divided out. Figs. 20, 21. Seedlings on planter. ($\times 1/2$). Fig. 22. Radical leaves were very numerous as they made up a big stock. ($\times 1/4$). Fig. 23. In the beginning a stem came out on the side. Fig. 24. After that a stem appeared in the center, then flowering stems around it.



Figs. 25-30. Leaf callus in the culture pot and plant bodies differentiated from callus (C).
 Fig. 25. Callus, 38 days after their transplantation to the medium. The one on the left is in the O-medium. It has a flowering bud. The one in the center is in the K-medium. It has a green callus about to differentiate. The one on the right is in the D-medium and still remains as callus. ($\times 1/2$). Fig. 26. The height of the stem is only 3 cm. It lived as it was for 80 days without flowering. ($\times 3/2$). Figs. 27, 30. They ramified but branching was not wide and no flowering. ($\times 1/2$). Fig. 28. Callus after 38 days transplanted to the O-medium. All four are budded. The third one from the left has rooted well and its buds are large and 14 cm high. The one on the right is the same as the one shown in Fig. 26. ($\times 3/2$). Fig. 29. After two and half months the transplanted callus flowered. 20 cm high. ($\times 1$).



Figs. 31-41. Callus from the leaf of *Crepis* and its cells (C). Fig. 31. Callus from leaf. (K-medium). Fig. 32. Callus on the left. 1st figure is beginning to differentiate. See the leaf. The one in the centre (K-medium) is becoming a green callus. The one on the right is of thin yellow, not green. (D-medium). Fig. 33. Callus is turning into a leaf. K-medium. 33 days. Fig. 34. Differentiation is beginning. Many buds and leaves are coming out. The callus on the K-medium. Fig. 35. O-medium. Differentiation of roots. 45 days. Figs. 36, 37. Callus increasing until the culture pot is full. Fig. 36. D-medium. Fig. 37. K-medium. A part of the callus is green. Some parts are woody brown. Figs. 38-41. Cells of callus (D-medium). Some cells are curved. (×250). Fig. 38. (×60).



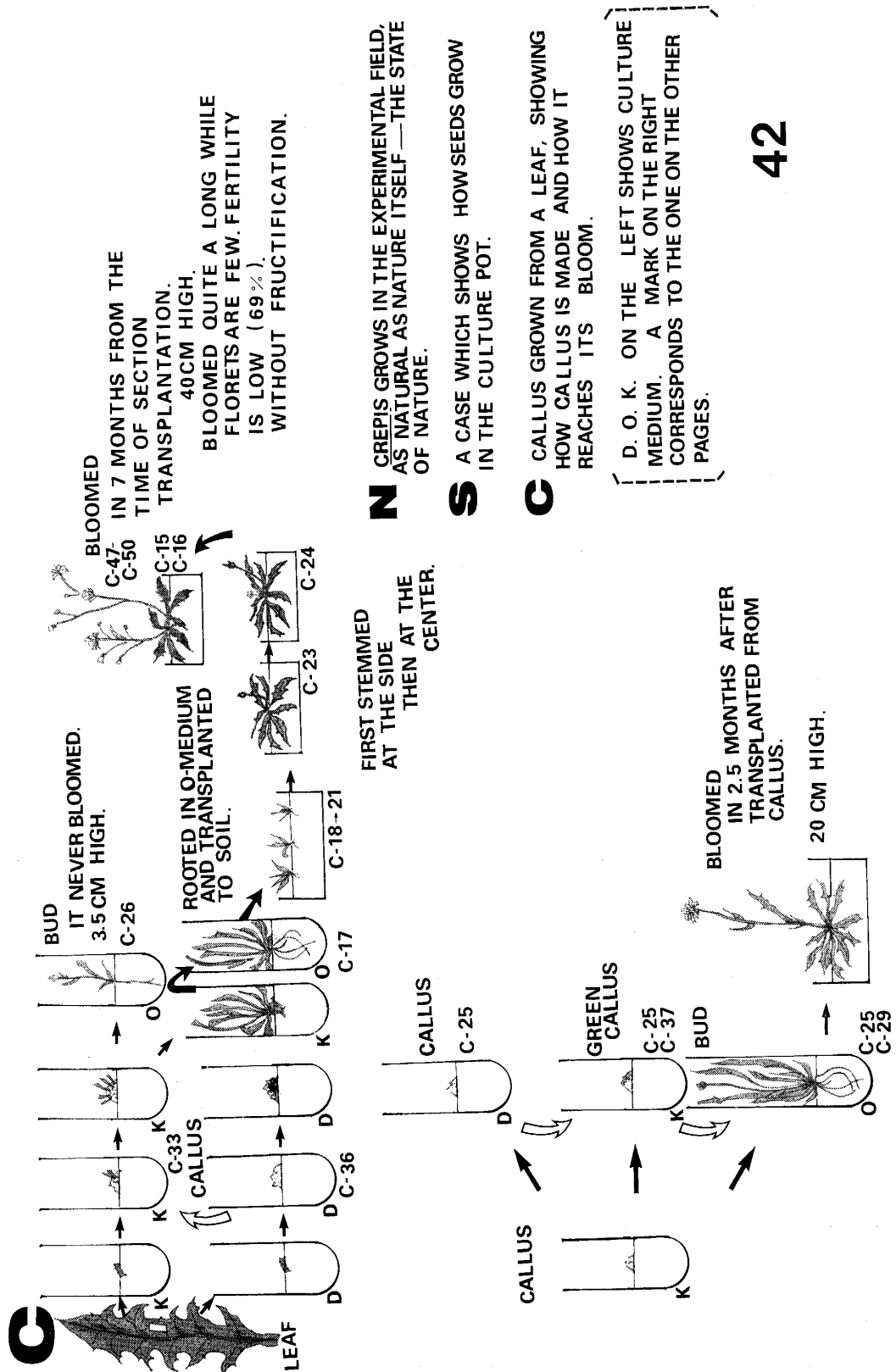


Fig. 42. Cycle to flowering in case of N.S.C. is shown here.

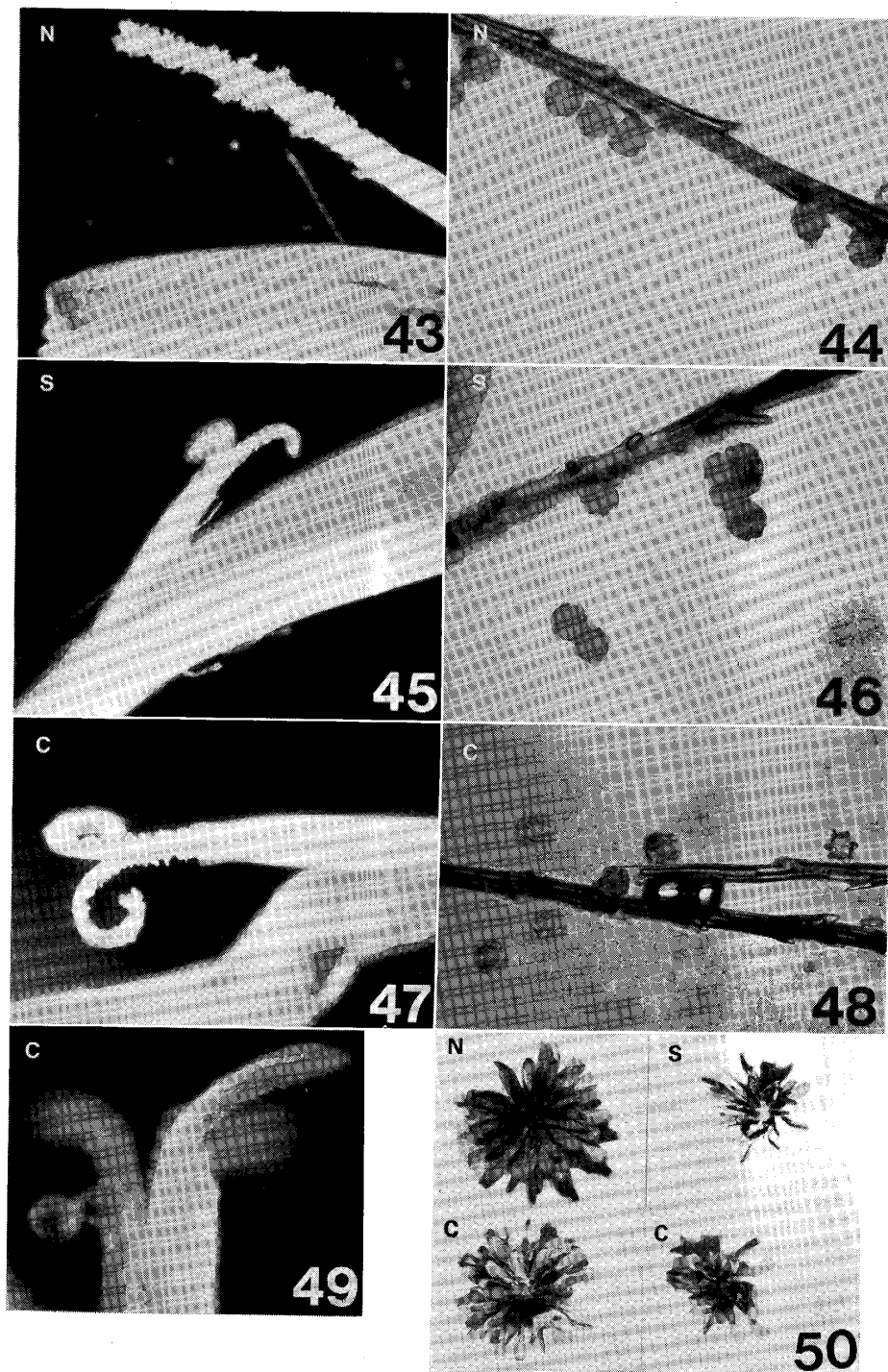


Fig. 43-50. Florets and pollens. Fig. 43. Floret of N. Ordinary petals, a lot of pollen. Fig. 44. The fertility of pollen is 98%. Fig. 45. Floret of S. Fig. 46. Shows its pollen; its fertility is 93%. Figs. 47, 49. Florets of C with twisted petals. They have a lot of pollen but its fertility is low. (69%). Fig. 48. Pollen of C. Fig. 49. Near the top of the pistil there appeared a sort of projection which was not seen in N or S. Fig. 50. Comparison between capitulate flowers. S is, though small, rich in fertility C is as big as N but has some twisted petals and is low in fertility.

On the flowering of *Crepis capillaris*

Shizue YAZAWA

Summary

Observation of cycles occurring during the long period of cultivation of *Crepis capillaris* in an enclosed experimental field tells us how it comes to bloom (N).

Using the seeds of this *Crepis* sterile culture is conducted in the culture pot. Some remained quite a long while in a state of rosette, some came to bloom in three and a half months—that was the shortest time they needed (S).

Callus was cultivated from the leaf of *Crepis* and differentiated and brought to bloom through several methods (C).

The shortest period it needed to bloom was two and a half months (C).

Comparison of how they come to bloom was made among three groups of plants: the first group, plant of enclosed field (N); second, plant cultivated from seeds (S); and third, plants differentiated from callus (C).

Also comparison was made among their florets.

Plants cultivated from seeds (S) were generally small and the number of florets and the number of involucral scales were few but the fertility of pollen was high—very near to ordinary natural ones.

Plants differentiated from callus showed a similar number of florets to those grown in experimental field (N) but were rather unusual, even extraordinary in that they had too many twists in the petal and not enough fertility of their pollen.